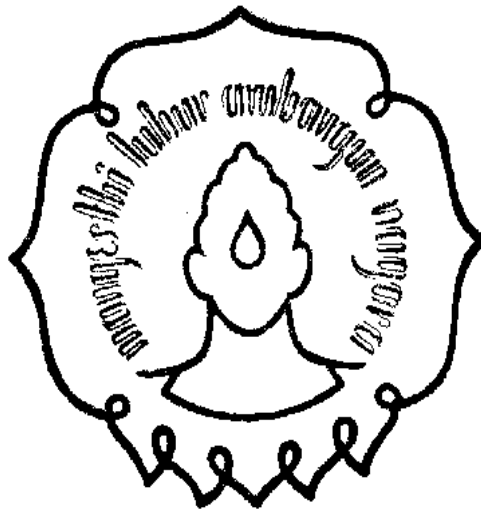


**EFEK TERATOGENIK KOMBUCHA PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) GALUR WISTAR**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan guna
memperoleh gelar Sarjana Sains**



Disusun Oleh :

CAHYA SETIAWAN

M0402019

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET SURAKARTA

2009

PENGESAHAN

SKRIPSI

**EFEK TERATOGENIK KOMBUCHA PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) GALUR WISTAR**

**Oleh:
Cahya Setiawan
M0402019**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, April 2009

Penguji I

Penguji II

Tjahjadi Purwoko, M.Si
NIP. 132 262 264

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si
NIP. 130 676 864

Penguji III

Penguji IV

Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D
NIP. 131 649 948

Dr. Okid Parama Astirin, M.Si
NIP. 131 569 270

Mengesahkan

Dekan F MIPA

Ketua Jurusan Biologi

Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D
NIP. 131 649 948

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si
NIP. 130 676 864

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, April 2009

Cahya Setiawan
NIM. M0402019

EFEK TERATOGENIK KOMBUCHA PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) GALUR WISTAR

CAHYA SETIAWAN

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
Sebelas Maret, Surakarta.

ABSTRAK

Kombucha digunakan sebagai obat rumahan untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai gangguan penyakit kelelahan kronis (*chronic fatigue syndrome*) ketegangan saraf dan jiwa, penuaan kulit, pengerasan pembuluh darah, masalah buang air, nyeri persendian, gangguan tidur (*insomnia*), menurunkan kadar kolesterol, bronkitis, varises, mencegah kerontokan, memperbaiki gangguan menstruasi, membantu menyembuhkan penyakit kanker usus atau payudara, serta menyembuhkan alergi debu atau makanan. Kombucha merupakan obat antikanker. Antikanker menghambat mitosis yang berlebihan sebagai agen alkilasi, antimitosis, dan antimetabolit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui : pengaruh kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal dan internal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar.

Penelitian ini menggunakan rancangan berupa Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan yaitu pemberian aquadest 2 ml/200 gr BB (kontrol); pemberian teh kombucha dosis 1,4 ml/200 BB (dosis terendah); 2,8 ml/200 BB (dosis yang dianjurkan); 4,2 ml/200 BB (dosis tertinggi), masing-masing perlakuan dengan 6 ulangan. Parameter yang diukur adalah parameter eksternal meliputi: berat induk, berat dan panjang badan fetus, kematian dan resorpsi fetus, serta morfologi fetus; dan parameter internal meliputi: bentuk tulang, dan hasil proses penulangan fetus. Data normal dan homogen dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) dan data yang tidak normal dan atau tidak homogen, dianalisa dengan tes Kruskal-Wallis, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT pada taraf signifikansi 5% menggunakan *software* SPSS versi 14.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombucha dengan dosis yang bervariasi tidak berpengaruh secara nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal dan internal fetus tikus. Perlakuan pada hewan percobaan (tikus) aman pada pemberian fase organogenesis.

Kata kunci : kombucha, teratogenik, fetus tikus, *Rattus norvegicus*

TERATOGENIC EFFECT OF KOMBUCHA ON WISTAR LINE MICE (*Rattus norvegicus* L.)

CAHYA SETIAWAN

Biology Department, Mathematics and Natural Sciences Faculty, Sebelas Maret
University, Surakarta.

ABSTRACT

Kombucha is used as a homemade medicine to prevent and cure several diseases like : chronic fatigue syndrome, stress, skin aging, arteriosclerosis, constipation, arthralgia, insomnia, high cholesterol, bronchitis, varises, hairfall, menstruation problem, breast and colon cancer, dust and food allergy. Kombucha is an anti-cancer. Anti-cancer constrain excessive mytosis as an alcilation agent, antimytosis, and antimetabolit. This research was sought to find out : the effect of kombucha on external and internal growth and development of wistar line mice fetus.

This research used complete random planning with four treatment; that is by giving aquadest 2 ml/200 gr W (control); giving kombucha tea 1,4 ml/200 gr W (lowest dossage); 2,8 ml/200 gr W (suggested dossage); 4,2 ml/200 gr W (highest dossage), each treatment was done six times. The parameter which is measured includes eksternal parameter : the weight of the mother, the weight and length of the fetus, death and reabsorbtion of the fetus, and the morfology of the fetus; internal parameter includes : the shape of the skeleton, and the result of skeletal process of the fetus. Normal and homogeneous data will be analyzed with varian analysis (ANAVA), abnormal and heterogenous data will be analyzed with Kruskall-Wallis, then the test is continued using DMRT test with 5% significancy grade using SPSS software v.14.

The result of the research shows that giving kombucha tea with various dossages does not factually effect the internal and external growth and development of mice fetus. Treatment on mice by giving kombucha during organogenesis phase is proven to be safe.

Keywords : kombucha, teratogenic, rat fetus, *Rattus norvegicus*

MOTTO

*“Segala perkara dapat kutanggung didalam Dia yang
memberi kekuatan kepadaku”*

(Fil 4:13)

”Ketekunan akan menghasilkan buah yang matang jika disertai dengan
kedisiplinan”

PERSEMBAHAN

Karya sederhana ini
kupersembahkan untuk:

*Jesus Christ, juru selamat dan
pemilik hidupku.*

*Orangtua tercinta, atas doa,
dukungan dan ketulusan yang takkan
pernah terbalas.*

*Kakak dan adikku,
Saat terindah ketika kita bisa
tertawa dan bercanda bersama.*

*Rian Pudji Darmawati, S.Si,
Yang tak henti-hentinya mendoakan
dan memberi dukungan.*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan YME atas limpahan berkat dan karunia-Nya yang tiada terhingga sehingga penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul : "Efek Teratogenik Kombucha Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar" dapat terselesaikan dengan baik. Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penulis mengakui bahwa skripsi ini dapat terselesaikan atas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Banyak masukan dan pengalaman yang diperoleh penulis selama penelitian maupun penyusunan skripsi yang sangat bermanfaat. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis mengucapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

Prof. Drs. Sutarno M.Sc, Ph.D, selaku Dekan F MIPA UNS dan selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan ijin dan membimbing serta mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi.

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si, selaku Ketua Jurusan Biologi F MIPA UNS dan selaku dosen penelaah II atas ijin, perhatian serta saran dan kritik yang diberikan kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan skripsi.

Dr. Okid Parama Astirin, M.Si, selaku dosen pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran membimbing dan memberikan petunjuk dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi.

Agung Budiharjo, M.Si, selaku pembimbing akademik atas nasehat-nasehatnya selama masa studi penulis.

Tjahjadi Purwoko, M.Si, selaku Dosen penelaah I atas saran dan kritik yang diberikan sehingga skripsi ini bisa menjadi lebih 'baik'.

Kepala dan staf Laboratorium Pusat, Sub Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk melakukan penelitian.

Teman-teman biologi angkatan 2002, teman-teman akta IV, teman-teman KMK St. Theresia FMIPA UNS dan Perkantas Surakarta, terima kasih atas dukungan dan doanya.

Seluruh almamater tercinta, atas waktu dan kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menimba ilmu dan pengalaman.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan, masukan dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca semua untuk menjadikannya lebih baik. Semoga karya sederhana ini bisa bermanfaat bagi semua pihak.

Surakarta, April 2009

Penyusun

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Akhir-akhir ini manusia melakukan usaha-usaha penyembuhan yang mendekati metode alami, berbagai jalan ditempuh antara lain dengan memperhatikan dan mengatur makanan yang mereka konsumsi, hidup teratur, olahraga, dan mengonsumsi obat-obatan tertentu. Salah satu metode alami untuk usaha penyembuhan yang dilakukan adalah pengolahan kombucha (Gunther, 1995; Naland, 2004).

Menurut Gunther (1995) kombucha adalah suatu ramuan minuman kuno yang terjadi atas hasil simbiosis murni dari bakteri dan ragi yang berasal dari Asia Timur. Jamur tersebut terdiri dari gelatinoid serta membran jamur yang liat serta hidup dalam lingkungan nutrisi teh manis yang akan tumbuh berulang sehingga membentuk susunan piringan berlapis (Wigod, 1995; Webb, 1995). Kombucha disebut jamur tetapi pada kenyataannya kombucha adalah kumpulan ragi dan bakteri yang tumbuh pada teh hitam. Jamurnya sendiri tidak pernah dikonsumsi, melainkan cairan hasil fermentasinya yang diminum (Monson, 1995). Menurut Naland (2004) jamur kombucha adalah organisme berbentuk lembaran gelatin (gel) berwarna putih dengan ketebalan antara 0,3-1,2 cm dan terbungkus selaput liat, jamur kombucha merupakan koloni dari ragi dengan beberapa bakteri. Salah satunya adalah *Saccharomyces ludwigii* yang bersimbiosis dengan *Bacterium zylinum* dan organisme lain yang ukurannya lebih kecil (Mayser *et al*, 1995).

Menurut Webb (1995) jamur teh menghasilkan berbagai unsur berguna yang akan muncul pada minuman seperti : asam glukoronat, asam asetat, asam laktat, vitamin dan asam-asam amino, berbagai unsur antibiotik, serta unsur-unsur lain. Jamur kombucha berkembang didalam lingkungan asam, kombucha akan mengurangi atau bahkan membunuh mikroba primitif penyebab kanker yang tumbuh subur dalam lingkungan basa (Monson, 1995). Selain bisa digunakan sebagai minuman penyegar kombucha bisa pula digunakan sebagai minuman pencegah dan membantu penyembuhan penyakit ringan hingga penyakit berat semacam kanker (Bazarewski, 1915).

Sklenar (1964) melaporkan dalam Hauser (1990) mengenai penyakit yang telah berhasil disembuhkan dengan kombucha: gout, rematik, arteriosklerosis, kekurangan bakteri tubuh dalam pembusukan makanan di usus besar, sembelit, impotensi atau hilangnya fungsi seksual, kekurangan cairan tubuh, kegemukan, batu ginjal, kolesterol, kanker terutama pada gejala awal. Jamur kombucha mempunyai unsur-unsur antiseptik yang kuat, oleh karena itu merupakan penyembuh yang sangat bagus bagi kanker terutama pada tahap awal karena kombucha akan menjadi unsur penghenti yang sangat kuat pada penyakit atau disebut sebagai *endobionts* (Lodewijkx, 1998).

Sekitar 60 % ibu hamil dan menyusui menggunakan obat-obatan untuk menjaga kesehatan kandungan mereka (Sauriasari, 2006). Banyak ibu hamil menggunakan obat pada trimester pertama kehamilan saat periode organogenesis sedang berlangsung, sehingga resiko terjadinya cacat janin menjadi lebih besar, sebab di samping obat dapat masuk dalam sirkulasi janin (saat masih dalam

kandungan) beberapa jenis obat diekskresi melalui air susu ibu (ASI) (Young, 2001). Menurut Young (2001) ibu yang hamil jika mengkonsumsi bahan makanan secara sembarang kemungkinan dapat menyebabkan malformasi atau kelainan fungsi fisiologis ataupun berpengaruh terhadap perkembangan jiwa janin atau pada anak setelah kelahiran (efek teratogenis).

Banyak artikel memang tidak merekomendasikan kombucha dikonsumsi ibu hamil dan menyusui, disebabkan calon bayi dan bayi yang muda belum memiliki sistem pencernaan yang baik untuk menyaring racun dari tubuh (Srinivasan *et al*, 1997). Senyawa-senyawa yang terkandung didalam kombucha merupakan senyawa-senyawa yang terbentuk akibat proses fermentasi bakteri dengan teh. Senyawa yang dihasilkan memiliki manfaat sebagai obat antibiotika dan antikanker. Menurut Ramelan dan Syahrin (1994) obat-obat antibiotika dan antikanker digolongkan sebagai obat yang mempunyai efek teratogenik. Kombucha juga mengandung polifenol selain senyawa asam glukoronat yang merupakan senyawa aktif teratogen (Perron, 1995).

Mengingat adanya kontroversi dan pendapat yang kontradiksi terhadap penggunaan dan pemanfaatan kombucha di kalangan masyarakat, maka peneliti tertarik untuk mengangkat topik tentang efek kombucha terhadap fetus tikus putih (*R. norvegicus*) galur Wistar.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar ?
2. Bagaimana pengaruh kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan internal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Pengaruh kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar.
2. Pengaruh kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan internal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat umum tentang pengaruh kombucha pada masa kehamilan dan diharapkan dapat menjadi rambu-rambu penggunaan yang aman.

BAB II
LANDASAN TEORI
A. Tinjauan Pustaka

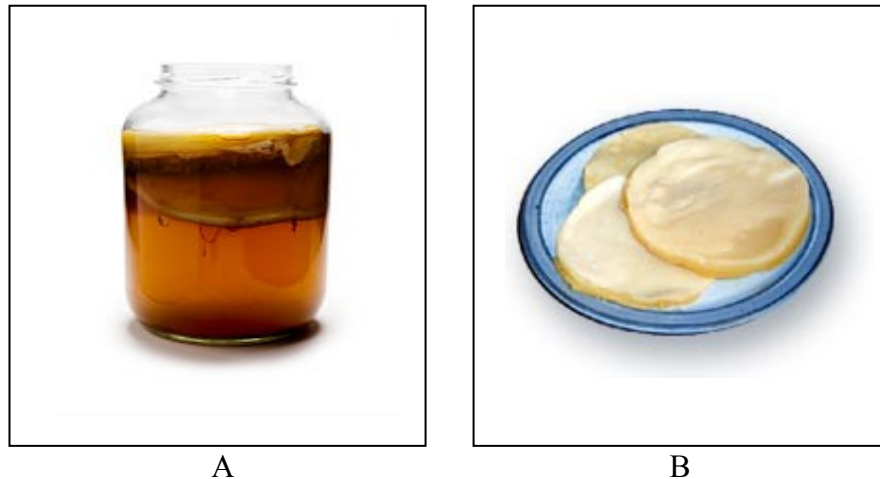
1. Kombucha

a. Sejarah

Kombucha berasal dari kata “kombu” dan “cha” (Whitehead, 2006). Menurut Naland (2003) “kombu” berasal dari nama seorang tabib dari Korea dan “cha” berarti teh. Pada sekitar tahun 414 SM, tabib Kombu pernah menyembuhkan seorang kaisar Jepang yang bernama Inkyo dari gangguan pencernaan kronis. Setelah mengonsumsi ramuan tabib Kombu, ternyata sang kaisar sembuh dari penyakit yang dideritanya (Whitehead, 2006).

Kombucha sebenarnya sudah populer sebagai minuman kesehatan sejak 3.000 tahun yang lalu, minuman ini diduga berasal dari Cina (Naland, 2003). Menurut Gunther (1995) sejak tahun 221 SM, orang-orang Cina sudah menganggap kombucha sebagai minuman berbahan teh yang bisa membuat kehidupan kekal. Orang Cina memberi nama minuman ini *tea of immortality*, dari negeri Cina penyebaran kombucha mengikuti jalur perdagangan dan akhirnya tersebar ke berbagai penjuru dunia. Kombucha dikenal di negara bagian timur dan ditemukan di Rusia pada tahun 1800-an, dikenal luas sebagai obat yang efektif untuk berbagai macam penyakit (Pauline *et al*, 2001). Pada tahun 1950-an mulai dikenal dunia ketika dokter berkewarganegaraan Rusia menemukan komunitas penduduk yang terlindungi dari lingkungan yang terkontaminasi, mereka

mengonsumsi minuman bernutrisi disebut *kvass tea* atau kombucha (Tietze, 1995). Bentuk kombucha dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (A). Kombucha, (B). Jamur kombucha.

Kombucha dikenal juga sebagai *Manchurian tea* atau *Kargasok tea* (Anonymous, 1998). Nama lain dari kombucha, yaitu : *lembuya orientalis*, *champagne of life*, *champignon de longuevie*, *combucha*, *Dr. Sklenar's kombucha*, *mushroom infusion*, *fungojapon*, *fungojapon kombucha*, *fungus japonicus*, *gelum oral-Rd*, *indo-japanese tea fungus*, *kombucha mushroom*, *kombucha tea*, *kwassan*, *Manchurian mushroom*, *miracle fungus*, *Mo-Gu*, *olinka*, *pinchia fermentans*, *spumonto*, *t'chai from the sea*, *tea fungus*, *tea kvass*, *teak wass*, *tee kwass*, *tschambucco*, *volga spring*, *wolga-qualle*, *wolga jellyfish*, *marine alga* (Mayser *et al*, 1995; Gunther, 1995).

b. Pembuatan Kombucha

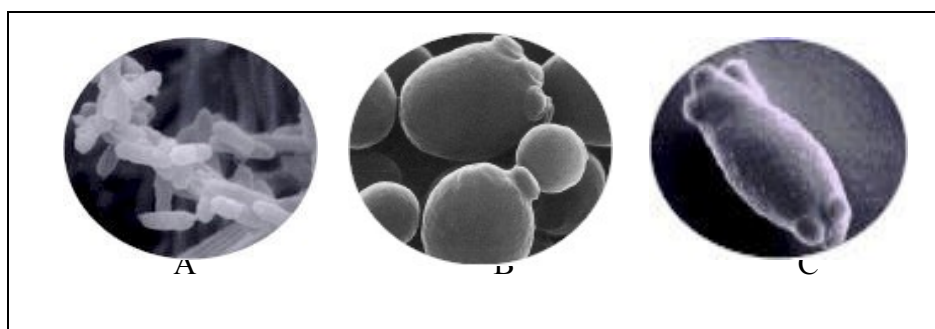
Meskipun dikenal sebagai jamur kombucha, tetapi sebenarnya bukan jamur. Bakteri dan ragi yang bermanfaat membentuk koloni padat kemudian memperbanyak dirinya sendiri selama proses fermentasi menghasilkan koloni

baru, istilah secara ilmiah untuk koloni baru tersebut adalah *zooglea* (Webb, 1995). Jamur kombucha terdiri dari membran jamur liat yang bentuknya mengikuti bentuk wadah (tempat pembiakan). Jamur kombucha hidup di lingkungan nutrisi larutan teh manis yang akan tumbuh terus-menerus hingga membentuk susunan yang berlapis (Naland, 2004). Koloni pertama akan tumbuh di lapisan paling atas dan pertumbuhannya akan memenuhi lapisan tersebut, kemudian disusul oleh pertumbuhan berikutnya yang semakin lama semakin tebal demikian seterusnya (Gunther, 1995). Koloni sebagai starter dicampurkan kedalam teh hitam dan gula dan dibiarkan terfermentasi selama 1 minggu atau lebih (Anonymous, 1998). Danielova (1954) seorang peneliti dari Rusia dalam Hobbs (1995) menyatakan kombucha dibuat dengan meletakkan biakan kombucha pada larutan teh dan gula. Teh hitam dan gula tebu adalah nutrisi terbaik. Dalam waktu 6-15 hari, proses metabolisme biologi dan kimiawi mengambil alih dan memproduksi unsur-unsur yang bermanfaat. Menurut Perron (1995) ketika diletakkan pada substrat yang tepat, ragi pada koloni kombucha memakan nutrisi-nutrisi dan dengan cepat memperbanyak diri untuk memproduksi alkohol.

Hasil fermentasi meliputi beberapa asam, yang biasa ditemukan pada beberapa makanan dan sedikit kandungan etilalkohol (Monson, 1995). Produk akhir mengandung sedikit alkohol (0,5%-1%), yang merupakan kadar alkohol yang sama pada minuman bir tanpa alkohol dan banyak minuman lain seperti jus apel (Hobbs, 1995). Menurut Anonymous (1998) minuman yang mengandung alkohol 0,5% atau kurang dapat dianggap *non alcoholic*. Produk akhir juga mengandung sedikit gula yang tidak diubah, semakin lama minuman difermentasi

sedikit gula dan lebih banyak alkohol yang dihasilkan kemudian akan berubah menjadi asam jika difermentasi terlalu lama (Wigod, 1995). Karena asam mampu melepaskan beberapa logam berbahaya seperti timah dan racun yang lain maka wadah keramik, bercat, kristal dari timah tidak boleh digunakan untuk pembiakan dan pembuatan kombucha (Phan *et al*, 1998).

Para peneliti selanjutnya menyatakan bahwa kultur jamur yang menyerupai spons tersebut sesungguhnya adalah suatu massa jelly yang dibentuk oleh pertumbuhan simbiosis dari *Bacterium xylinum* dari genus *Saccharomyces*, dengan gumpalan sel-sel jamur berbentuk sarang (Webb, 1995). Menurut Gunther (1995) beberapa koloni bakteri yang membentuk massa jelly tersebut adalah: *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces apiculatus*, *Bacterium xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Acetobacter ketogenum*, tipe-tipe *Torula*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Candida stellata*, *Torulaspora delbrueckii*, dan *Zygosaccharomyces bailii* (Anonymous, 2006). Contoh bakteri yang terdapat pada kombucha dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. (A). *Acetobacter aerobic*, memproduksi asam asetat dan asam glukonat; (B). *Saccharomyces*, memproduksi alkohol; (C). *Brettanomyces*, memproduksi alkohol dan asam asetat.

c. Fermentasi Kombucha

Proses fermentasi kombucha dimulai ketika kultur mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂, kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. Glukosa berasal dari inversi sukrosa oleh khamir menghasilkan glukosa dan fruktosa. *Acetobacter* sebagai bakteri utama dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat (Chu and Chen, 2006).

Menurut Dufresne *et al* (2000) aktifitas biokimia yang kedua dari bakteri *Acetobacter* adalah pembentukan asam glukonat yang berasal dari oksidasi glukosa. Sukrosa dipecah menjadi glukosa dan fruktosa oleh khamir. Pada pembuatan etanol oleh khamir dan selulosa oleh *Acetobacter xylinum*, glukosa dikonversi menjadi asam glukonat melalui jalur fosfat pentosa oleh bakteri asam asetat, sebagian besar fruktosa dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat. Bakteri asam laktat juga menggunakan glukosa untuk mensintesis selulosa mikrobial. Fruktosa yang masih tertinggal sebagian dalam media fermentasi diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana oleh mikroorganisme sehingga dapat digunakan sebagai substrat fermentasi. Kultur dalam waktu bersamaan juga menghasilkan asam-asam organik lainnya (Chu and Chen, 2006).

Bakteri *Acetobacter xylinum* mengubah gula menjadi selulosa yang disebut nata/partikel dan melayang di permukaan medium. Jika nutrisi dalam medium telah habis dikonsumsi, kultur akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati. Kultur akan aktif lagi jika memperoleh nutrisi kembali. Bakteri asam asetat

memanfaatkan etanol untuk tumbuh dan memproduksi asam asetat. Adanya asam asetat akan menstimulasi khamir untuk memproduksi etanol kembali. Interaksi simbiosis ini ditemukan pada *Glukonobacter* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Konsentrasi asam asetat dalam kombucha hanya meningkat sampai batas tertentu lalu mengalami penurunan. Hal ini terjadi karena pemanfaatan asam asetat lebih lanjut oleh *Acetobacter xylinum* ketika jumlah gula dalam media teh mulai habis. Penurunan kadar asam ini juga dikarenakan fermentasi etanol oleh khamir juga mengalami penurunan dikarenakan pH yang sangat rendah serta mulai habisnya gula dalam larutan (Jayabalan *et al*, 2007; Chu and Chen, 2006).

d. Kandungan Kombucha

Kombucha merupakan agen penghasil senyawa biokimia. Mikroorganisme yang ada di dalam jamur kombucha akan mengubah kandungan gula di dalamnya menjadi berbagai jenis asam, vitamin, dan alkohol (Roussin, 2003). Kandungan kimia kombucha menurut Roussin (2003) antara lain:

1). Asam Folat (*Citroforum Factor* atau *Leucovorin*).

Asam folat terdiri dari pteridin, asam paraaminobenzoat (PABA), dan asam glutamat (Ernst *et al*, 2003). Asam folat berfungsi menghambat pertumbuhan sel kanker di usus besar, kanker serviks, kanker paru, dan kanker esophagus (Gunther, 1995; Naland, 2004).

2). Asam Glukoronat (*Glucoronic Acid*).

Menurut Kohler (1961) dalam Gunther (1995), asam glukoronat bisa dipakai untuk mengobati penyakit kanker. Efek panjang dari asam glukoronat adalah membangkitkan sistem pertahanan tubuh. Hati atau *liver* manusia yang sehat mampu memproduksi asam glukoronat dalam jumlah yang cukup banyak bagi keperluan tubuh (Naland, 2004).

3). Asam Laktat (Asam 2-Hidroksipropanoat).

Asam laktat dikenal sebagai asam susu yang berada di dalam tubuh manusia (Naland, 2004). Menurut Gunther (1995) pada penderita kanker yang sudah berat, kadar asam laktat di dalam tubuh rendah. Salah satu peran asam laktat yang dihasilkan kombucha adalah mencegah serangan penyakit kanker (Monson, 1995).

4). Asam Asetat (Asam Etanoat atau Asam Cuka).

Asam asetat merupakan bagian terbesar dari asam yang dihasilkan oleh proses fermentasi kombucha (Perron, 1995). Asam inilah yang memberikan rasa asam pada minuman kombucha (Monson, 1995). Menurut Gunther (1995) di dalam tubuh peranan asam asetat diperkirakan lebih besar dibandingkan dengan asam glukoronat.

5) Asam Glukonat.

Memiliki fungsi yang hampir sama dengan asam glukoronat sebagai antikanker (Naland, 2004). Asam Glukonat dibentuk dari aktifitas biokimia kedua dari bakteri *Acetobacter* yang berasal dari oksidasi glukosa (Jayabalan *et al*, 2007).

Senyawa-senyawa yang terkandung didalam kombucha merupakan senyawa-senyawa yang terbentuk akibat proses fermentasi bakteri dengan teh. Senyawa yang dihasilkan memiliki manfaat sebagai obat antibiotika dan antikanker. Menurut Ramelan dan Syahrin (1994) obat-obat antibiotika dan antikanker digolongkan sebagai obat yang mempunyai efek teratogenik. Kombucha juga mengandung polifenol selain senyawa asam glukoronat yang merupakan senyawa aktif teratogen (Perron, 1995).

e. Manfaat Kombucha.

Kombucha telah digunakan berabad-abad oleh bangsa-bangsa di Asia karena kemampuannya menyembuhkan berbagai gangguan penyakit (Webb, 1995). Di samping itu, kombucha juga digunakan sebagai obat rumahan untuk mencegah dan menyembuhkan kelelahan kronis (*chronic fatigue syndrome*)

ketegangan saraf dan jiwa, penuaan kulit, pengerasan pembuluh darah, masalah buang air, nyeri persendian, gangguan tidur (insomnia), menurunkan kadar kolesterol, bronkitis, varises, menyuburkan rambut, mencegah kerontokan, memperbaiki gangguan menstruasi, membantu menyembuhkan penyakit kanker usus atau payudara, serta menyembuhkan alergi debu atau makanan (Gunther, 1995; Monson, 1995).

Menurut Roussin (2003) dalam melawan kanker, minuman kombucha berperan mengendalikan sistem kekebalan tubuh. Kombucha akan mengurangi, bahkan membunuh mikroba patogen salah satu penyebab kanker yang tumbuh subur di lingkungan basa hingga tubuh menjadi kuat (Monson, 1995). Pengobatan kanker stadium awal, termasuk tumor, dengan cara mengonsumsi kombucha sebenarnya menganut prinsip membunuh mikroba patogen penyebab kanker (virus *Papilloma*, virus *Epstein barr*, virus hepatitis B, virus hepatitis C) dengan mikroba yang terdapat pada kombucha (Naland, 2004). Kombucha berperan sebagai unsur penghambat yang sangat kuat terhadap serangan suatu penyakit atau *endobionts* (Lodewijkx, 1998).

Kombucha merupakan obat antikanker. Antikanker menghambat mitosis yang berlebihan sebagai agen alkilasi, antimitosis, dan antimetabolit. Sebagai agen alkilasi, mengganggu DNA karena gugus alkilnya sangat reaktif terhadap DNA, RNA dan beberapa enzim tertentu. Zat alkilasi diduga bereaksi dengan posisi *7-guanin* pada untai ganda DNA dan menyebabkan adanya rangkai silang. Hal ini mempengaruhi untai DNA dan mencegah mitosis. Antimitosis dengan cara menghambat pembelahan sel, sebagai antimetabolit dengan mengganggu sintesis DNA tetapi dengan jalan antagonis yaitu memiliki rumus kimia yang mirip dengan rumus beberapa metabolit tertentu yang penting bagi fisiologi sel seperti asam folat, purin dan pirimidin (Foye, 1996; Anonim, 2002; Tjay dan Rahardja, 2002).

Asam laktat yang dihasilkan kombucha adalah sebagai pencegah serangan penyakit kanker (Monson, 1995). Webb (1995) menyatakan kandungan asam laktat di dalam kombucha sangat tinggi. Inilah yang menjadi dasar bahwa

kombucha bisa untuk mengobati kanker karena bisa meningkatkan kandungan asam laktat dalam tubuh (Gunther, 1995).

e. Konsumsi Kombucha.

Kombucha sudah dikonsumsi selama bertahun-tahun, tetapi hingga saat ini belum ada aturan tentang penerapan dosis pemberiannya. Menurut Naland (2004) selama ini masyarakat mengonsumsi kombucha dengan dosis yang dikira-kira. Biasanya, para orangtua memberi kombucha kepada anak-anaknya setelah membuktikan sendiri khasiat kombucha (Paimin, 2001).

Kombucha sebaiknya diberikan secara bertahap (sedikit demi sedikit) hingga dosisnya semakin bertambah (Gunther, 1995). Pemberian pada hari pertama bisa sekitar satu sendok teh, dan beberapa hari berikutnya harus dilihat dahulu reaksi setelah mengonsumsi (Naland, 2004). Sejauh ini, pemberian kombucha kepada anak-anak tidak pernah memberikan efek samping yang berbahaya. Belum ada penelitian klinis yang cukup ketat terhadap pengaruh kombucha jika dikonsumsi anak di bawah 2 tahun (Ernst *et al*, 2003; Naland, 2004). Dosis konsumsi kombucha dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Dosis konsumsi kombucha terhadap anak-anak dan orang dewasa.

Umur	Dosis
Lebih dari 18 tahun (dewasa)	penuh (1 gelas) \pm 300 ml
15-17 tahun	$\frac{3}{4}$ dosis dewasa \pm 225 ml
10-14 tahun	$\frac{1}{2}$ dosis dewasa \pm 150 ml
5-9 tahun	$\frac{1}{3}$ dosis dewasa \pm 100 ml
3-4 tahun	$\frac{1}{4}$ dosis dewasa \pm 75 ml
1-2 tahun	$\frac{1}{10}$ - $\frac{1}{5}$ dosis dewasa \pm 30-60 ml

Naland, 2004.

Bacinskaja (1914) dalam Gunther (1995) menyatakan mengonsumsi kombucha bisa dimulai dari satu gelas kecil, dosis kemudian ditingkatkan berangsur-angsur untuk mendapatkan khasiat yang nyata. Dosis untuk penderita kanker biasanya mengikuti anjuran Sklenar (1964) yaitu 1 liter per hari dan $\frac{1}{2}$ hingga $\frac{3}{4}$ liter untuk *pre-cancer* (Hauser, 1990).

2. Teratologi.

Teratologi adalah studi tentang mekanisme dan manifestasi dari perkembangan yang menyimpang dari sifat struktural dan fungsional (Anonymous, 2006). Zat kimia yang secara nyata mempengaruhi perkembangan janin menimbulkan efek yang berubah-ubah mulai dari kematian sampai kelainan bentuk (malformasi) dan hambatan pertumbuhan (Young, 2001). Menurut Loomis (1978) secara kolektif respon-respon ini disebut efek embriotoksik. Banyak zat kimia yang mempunyai sifat embriotoksik. Beberapa zat dapat mengakibatkan letal sedang yang lainnya mampu menimbulkan kelainan pada janin. Harbison (1980) berpendapat malformasi janin tersebut disebut *terata* dan zat kimia yang menimbulkan *terata* disebut zat teratogen atau zat teratogenik.

Efek toksik terhadap suatu janin secara eksperimental dapat diperoleh dengan cara memberikan suatu zat kepada induknya. Janin mengandalkan induknya untuk pertumbuhan dan pemeliharaannya (Siswosudarmo, 1988). Efisiensi plasenta yang bertindak sebagai penghalang perpindahan suatu zat dari induk ke janinnya tergantung pada umur kehamilan. Menurut Goldstein dkk. (1969) dalam Siswosudarmo (1988) pada awal kehamilan tebal barrier plasenta adalah 25 mikrometer dan pada akhir kehamilan adalah 2 mikrometer. Fungsi

pengeluaran atau bahkan fungsi endokrin dari plasenta mungkin secara langsung dapat dipengaruhi oleh zat kimia, yang mengakibatkan suatu efek merusak tidak langsung terhadap keselamatan janin. Apabila suatu zat dapat mengakibatkan toksisitas terhadap induk, efek seperti itu akan diperkirakan dapat mempengaruhi lingkungan intrauterin janin (Loomis, 1978).

Sifat teratogenik atau dismorfogenik suatu zat tergantung pada beberapa faktor antara lain kepekaan spesies, dosis obat/zat kimia, dan yang terpenting adalah periode kritis perkembangan yaitu ketika janin dalam fase organogenesis (Kumolosasi dkk, 2004). Pada manusia periode kritis ini terjadi antara minggu ke-3 sampai ke-8 pasca konsepsi (Moore, 1974 dalam Siswosudarmo, 1988). Pada tikus dan mencit, periode kritis perkembangan janin berkisar antara hari ke-5 sampai hari ke-15 (Goldstein *et al*, 1974).

3. Periode Kritis Perkembangan Janin.

Dalam periode praimplantasi hingga implantasi, pengaruh luar suatu teratogen biasanya bersifat letal, sehingga kelainan berakhir dengan abortus (Harbison, 1980). Pada periode ini obat/zat kimia lebih bersifat embrio toksik (janin dalam masa embriotik). Periode berikutnya adalah organogenesis mulai dari hari ke-13 sampai hari ke-60 (pada manusia) sedangkan pada tikus mulai hari ke-7 sampai hari ke-17 kebuntingan (bila hari kawin dianggap hari ke-0 kebuntingan). Pada periode ini terjadi diferensiasi sel-sel untuk membentuk kelompok khusus yang mempunyai kesamaan fungsi yang disebut organ (Widiyani dan Sagi, 2001). Setiap gangguan dalam diferensiasi pada periode ini bila tidak mengakibatkan kematian selalu menghasilkan kelainan bawaan yang berat, dalam arti yang

sempit suatu obat/zat kimia disebut teratogenik apabila pengaruhnya terjadi pada periode ini sehingga menyebabkan kelainan bawaan yang berat (Moore, 1974 dalam Siswosudarmo, 1988).

Menurut Tuchmann (1975) teratogen yang mengenai fetus, yang organ-organnya telah terbentuk dan sedang tumbuh, maka kepekaan terhadap teratogen berkurang. Akan tetapi masih ada beberapa organ seperti serebelum, korteks serebri, bagian urogenital yang masih dalam fase diferensiasi, sehingga pada stadium fetus organ-organ ini masih peka terhadap teratogen sampai berakhirnya masa kehamilan (Ramelan dan Syahrin, 1994).

4. Zat Teratogenik.

Berbagai zat kimia dan obat yang mempunyai efek teratogenik menurut Ramelan dan Syahrin (1994) adalah : alkaloid, zat androgen, antibiotika, obat antiepilepsi, obat antitumor, kortikosteroid, thalidomide, insulin, obat hipoglikemik, obat untuk kelenjar tiroid, Asam Dietilamid Lisergat, dan air raksa organik. Berdasarkan penelitian Perron (1995) teh kombucha mengandung senyawa antitumor dan polifenol yang merupakan zat kimia teratogenik. Sifat teratogenik obat/zat kimia dapat digolongkan menjadi 3 golongan besar, yakni obat/zat kimia dengan sifat teratogen pasti (*known teratogens*), obat/zat kimia dengan kecurigaan kuat bersifat teratogen (*probable teratogens*), obat/zat kimia yang diduga bersifat teratogen (*possible teratogens*) (Siswosudarmo, 1988).

Berdasarkan dosis pemberiannya menurut Ritter (1977) agen teratogen dosis rendah akan menyebabkan kematian beberapa sel dan akan terjadi pergantian sel tetangganya dengan *hiperplasia kompensatorik* sehingga terjadi

fetus yang normal secara morfologis, akan tetapi ukurannya tetap kecil. Kompensasi sel itu terus berlangsung selama periode organogenesis, agar terjadi morfogenesis yang normal akan tetapi bila kompensasi itu gagal dan tidak dapat mencapai target pada tahap organogenesis maka akan terjadi malformasi atau cacat bawaan (Tuchmann, 1975). Agen teratogenik dosis tinggi akan menyebabkan kematian sel dalam jumlah tinggi sehingga terjadi embrioletal (Ritter, 1977).

5. Jalan Masuk Zat Asing ke dalam Sel Embrio.

Menurut Delatour (1983) zat asing dalam tubuh (*xenobionts*) dapat berupa obat, racun, zat organik atau logam berat serta agen kimia dan fisika lain yang sebenarnya tidak diperlukan. Kemungkinan masuknya zat asing ke dalam tubuh ada berbagai jalan yaitu kontak langsung dari kulit, lewat sistem pernafasan, lewat sistem pencernaan, secara eksperimen disuntikkan atau disinari, kemudian dibawa oleh sistem peredaran darah sampai ke sel (Harbison, 1980). Menurut Tuchmann (1975) masuknya zat asing ke dalam embrio mamalia adalah melalui plasenta. Agen kimia dan fisika dengan berat molekul kecil dapat masuk embrio dengan mudah melewati halangan plasenta. Permeabilitas membran plasenta menentukan banyak sedikitnya zat asing yang dapat masuk ke embrio (Howland, 1975).

Plasenta adalah organ sementara dan merupakan tempat berlangsungnya pertukaran fisiologik antara induk dan fetus dan bersifat permeabel (Junqueira *et al* , 1998). Fungsi utama plasenta adalah memungkinkan difusi bahan makanan dari darah ibu ke dalam darah fetus dan difusi hasil-hasil ekskresi dari fetus

kembali ke dalam tubuh induk (Tuchmann, 1975). Pada awal perkembangan janin permeabilitas plasenta relatif sedikit, luas permukaan plasenta masih kecil dan membran vili plasenta tebalnya belum mencapai minimal (Siswosudarmo, 1988). Pada saat plasenta bertambah tua permeabilitasnya meningkat secara progresif sampai akhir masa kehamilan, sesudahnya permeabilitas mulai berkurang kembali. Peningkatan permeabilitas membran plasenta disebabkan penambahan luas permukaan membran plasenta dan penipisan progresif lapisan-lapisan vili (Guyton, 1976).

Zat asing seperti kombucha yang dikonsumsi ibu hamil dapat menembus sawar plasenta sebagaimana halnya dengan nutrisi yang dibutuhkan janin, dengan demikian mempunyai potensi untuk menimbulkan efek pada janin. Janin yang belum berkembang sempurna tidak dapat memetabolisme zat asing dengan baik sehingga akan memberikan efek negatif dan mempengaruhi perkembangan normal janin maupun bayi yang baru lahir (Pacifci, 1995). Menurut Rubin (1992) kebanyakan zat asing dapat melewati sawar plasenta dengan mudah, sehingga membuat janin sebagai penerima zat asing yang tidak berkepentingan.

Jalur utama transfer zat asing melalui plasenta adalah dengan difusi sederhana. Zat asing yang bersifat lipofilik lebih mudah menembus plasenta daripada zat nonlipofilik (Lenz and Knapp, 1962). Menurut Datu (2005) zat asing yang tidak terionisasi pada pH fisiologis akan lebih mudah berdifusi melalui plasenta dibandingkan zat asing yang bersifat asam atau basa. Perubahan-perubahan pada aliran darah plasenta akibat keadaan patofisiologis sekunder

(hipertensi dalam kehamilan) atau karena efek farmakologis zat asing dapat mempengaruhi transfer zat asing melalui plasenta (Jacobs, 1996).

Faktor-faktor yang mempengaruhi transfer zat asing melalui plasenta antara lain adalah berat molekul zat asing, pH saat 50% zat asing terionisasi, dan ikatan antara zat asing dengan protein plasma (Krishnamurthy, 1983). Mekanisme transfer zat asing melalui plasenta dapat dengan cara difusi, baik aktif maupun pasif, transport aktif, fagositosis, dan pinositosis (Fraser, 1992).

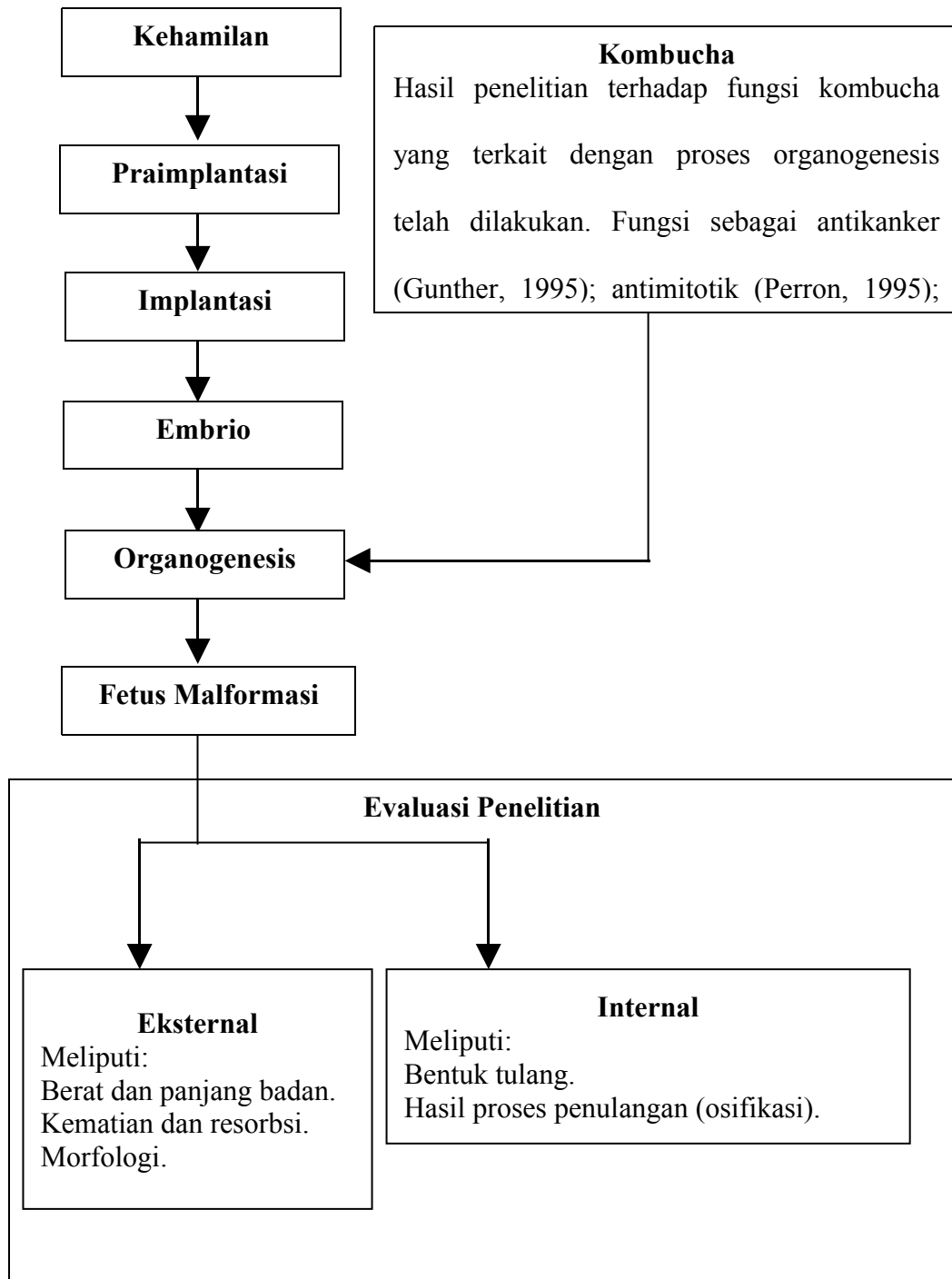
Menurut Guyton (1976) oksigen dalam darah yang terdapat dalam sinus-sinus plasenta yang lebar dengan mudah melalui membran vili masuk ke dalam darah fetus karena selisih tekanan oksigen dari darah ibu dengan darah fetus. Zat-zat metabolik lain yang diperlukan fetus berdifusi ke dalam darah fetus dengan cara sama seperti oksigen (Tuchmann, 1975). Ekskresi melalui membran plasenta dengan cara difusi karbondioksida dan zat sisa metabolisme dari darah fetus ke darah induk (Guyton, 1983).

B. Kerangka Pemikiran

Dalam penelitian ini kombucha diberikan pada tahap organogenesis tikus karena masa organogenesis merupakan masa yang kritis untuk terjadinya cacat. Pada periode ini terjadi diferensiasi sel yang sangat intensif untuk membentuk alat-alat tubuh, sehingga fetus sangat peka terhadap zat teratogenik yang masuk.

Apabila pada fase organogenesis ini diberikan kombucha yang mengandung senyawa-senyawa antitumor dan antikanker yang pada prinsipnya mempunyai efek teratogenik sehingga besar kemungkinan mengakibatkan

abnormalitas atau dapat mengakibatkan kematian pada fetus. Kerangka pemikiran dapat digambarkan pada bagan sebagaimana terlihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kerangka Pemikiran.

C. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut :

1. Dosis kombucha yang diberikan hingga 4,2 ml/200 gr BB pada fase organogenesis diduga memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar.
2. Dosis kombucha yang diberikan hingga 4,2 ml/200 gr BB pada fase organogenesis diduga mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan internal fetus tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2007. Pembuatan kombucha dilakukan di Sub Lab. Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta. Pemeliharaan hewan uji dan pemberian perlakuan dilaksanakan di Sub Lab. Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi :Alat untuk pembuatan kombucha : toples kaca, kain bersih untuk penutup toples, botol plastik, corong plastik, pH meter.
- b. Alat untuk perlakuan : kandang untuk pemeliharaan tikus beserta tempat minum, timbangan analitik, spuit 3 ml, dan kanul.
- c. Seperangkat alat untuk membuat preparat *wholemout* tikus : *scalpel*, pinset, gunting bedah, botol jam, botol gelas plastik besar bertutup, gelas ukur 100 ml, wadah plastik berlubang dan tidak berlubang.
- d. Alat untuk pengamatan preparat : kertas milimeter blok, lampu, dan lup.
- e. Alat untuk dokumentasi : kamera digital merk Sony.

2. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan untuk penelitian ini meliputi :

1. Bahan untuk pembuatan kombucha : jamur kombucha, air putih (1.000 ml), gula pasir 75-100 gram, empat bungkus teh celup hitam merk Sariwangi.
2. Bahan untuk perlakuan : hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*R. norvegicus* L.) galur Wistar bunting hari ke nol umur 3 bulan dengan berat sekitar 200 gr, pellet Par G sebagai pakan sehari-hari, kombucha, dan air, serta akuades.
3. Bahan kimia untuk pembuatan preparat *wholemound* fetus : alkohol 95 %, aseton gliserin 100%, zat warna *alcian blue*, zat warna *alizarin red S*, asam asetat glasial, akuades, etanol, dan KOH.

C. Cara Kerja

Dalam penelitian ini digunakan rancangan berupa Rancangan Acak Lengkap yang menggunakan 4 perlakuan dengan 6 ulangan pada masing-masing perlakuan.

1. Persiapan Hewan Percobaan

- 1 Tikus bunting berumur 3 bulan dengan berat sekitar 200 gr dipelihara di kandang, masing-masing kandang perlakuan berisi 6 tikus.
2. Tikus putih sebelum dipergunakan untuk penelitian diaklimatisasi dahulu selama 4 hari dan diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

2. Pembuatan Kombucha

- a. 1 liter air direbus hingga mendidih.
- b. Jika sudah mendidih, ditambahkan 4 sachet teh celup hitam merk Sariwangi.
- c. Dibiarkan selama sekitar 15 menit.
- d. Teh celup kemudian dipisahkan.
- e. Ditambahkan 70-100 gr gula putih (1 sendok makan setara dengan 20 gr), diaduk hingga gula bercampur dengan air teh.
- f. Larutan teh yang sudah mengandung gula dibiarkan sampai hangat atau suam-suam kuku (sekitar 20-25°C). Jika larutan teh masih panas, dikhawatirkan koloni kombucha akan mati.
- g. Jika suhu sudah turun, larutan teh dimasukkan ke dalam toples kaca.
- h. Jamur kombucha dengan berat kurang lebih 200 gr dimasukkan ke dalam toples yang sudah berisi larutan teh.
- i. Toples ditutup dengan kain bersih dan diikat dengan menggunakan karet gelang. Toples ditutup serapat mungkin agar semut, lalat, nyamuk, debu. Dan sumber polusi lain tidak masuk.
- j. Larutan teh yang telah berisi jamur kombucha dibiarkan selama 7-10 hari untuk melakukan proses fermentasi dengan suhu ruangan 23-27 °C.
- k. Jika larutan teh sudah mencapai tingkat keasaman yang benar (pH 3-5,5), jamur kombucha diangkat dengan tangan yang sebelumnya dicuci bersih.

- l. Larutan kombucha yang sudah jadi dimasukkan ke dalam botol plastik atau kaca dengan bantuan corong plastik. Setelah terisi penuh, botol ditutup rapat.
- m. Kombucha dibiarkan di dalam botol selama 5 hari.

3. Penentuan Dosis

Volume pengecekan peroral larutan diusahakan tidak melebihi volume lambung tikus yakni 5 ml. Menurut Sklenar (1964) dalam Hauser (1990) dosis preventif untuk pengobatan kanker adalah 1 liter/hari, dengan melakukan perhitungan kesetaraan antara manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) maka diperoleh dosis pemberian untuk tikus adalah 2,8 ml/200 gr BB/hari. Dosis pemberian terendah adalah 1,4 ml/200 gr BB/hari dan dosis pemberian tertinggi adalah 4,2 ml/200 gr BB/hari.

4. Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji dibagi 4 kelompok, 1 merupakan kelompok kontrol dan 3 merupakan kelompok perlakuan, masing-masing ada 6 tikus. Tikus diberi makan dan minum secara *ad libitum*, serta diberi larutan kombucha secara oral menggunakan kanul. Pemberian dosis dilakukan dua kali tiap pagi hari dan sore hari. Dosis per cekokan masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

- | | |
|-----------------------------------|--|
| a. Kelompok I (kontrol) | : - dosis 1 ml akuades/hari.
- dosis 1 ml akuades/hari. |
| b. Kelompok II (1/2 dosis) | : - dosis 0,7 ml kombucha/200 gr BB
- dosis 0,7 ml kombucha/200 gr BB |
| c. Kelompok III (dosis preventif) | : - dosis 1,4 ml kombucha/200 gr BB
- dosis 1,4 ml kombucha/200 gr BB |
| d. Kelompok IV (dosis kuratif) | : - dosis 2,1 ml kombucha/200 gr BB
- dosis 2,1 ml kombucha/200 gr BB |

5. Pemberian Larutan Kombucha

Pada hari ke-5 kebuntingan (hari kawin dianggap hari ke-0 kebuntingan) semua tikus ditimbang untuk perlakuan. Pemberian larutan kombucha secara oral pada hari ke-5 sampai hari ke-17 kebuntingan (masa organogenesis), pada hari ke-18 tikus dibedah.

6. Pembedahan dan Pengamatan

Pada hari ke-18 masa kebuntingan, hewan uji dikorbankan dan dibedah untuk diamati fetusnya. Jumlah implantasi dicatat yang terdiri dari jumlah fetus yang hidup, jumlah fetus yang mati, dan jumlah fetus yang resorpsi. Selanjutnya dilakukan pengamatan eksternal (menimbang berat fetus, mengukur panjang fetus dan mengamati morfologi fetus). Untuk pengamatan internal diamati sistem skeletannya (bentuk tulang dan hasil proses penulangan). Untuk pengamatan bentuk fetus dibuat sediaan *Wholemout* dengan metode pewarnaan ganda menurut Inouye (1976). Proses pembuatan preparat tersebut adalah sebagai berikut :

1. Fetus difiksasi ke dalam alkohol 95% selama 3 hari.
2. Viscerasi yaitu kulit, viscera, dan jaringan lemak dibuang, proses ini dilakukan dengan sangat hati-hati agar posisi atau kedudukan anggota tubuh fetus tidak berubah.
3. Fetus tikus putih dimasukkan dalam aseton selama 1 hari untuk melarutkan lemak.

4. Fetus diwarnai pada hari ke-4 setelah fiksasi dengan larutan pewarna campuran *Alizarin Red S* dan *Alcian Blue* selama 1-3 hari pada suhu 37°C.
5. Fetus dicuci dengan air mengalir beberapa kali hingga bersih.
6. Fetus dijernihkan dengan larutan KOH 1% dalam air selama 2 hari sampai jaringan yang membungkus tubuh jadi transparan dan yang berwarna merah merupakan jaringan tulang keras sedangkan yang berwarna biru merupakan jaringan tulang rawan.
7. Fetus dipindahkan ke dalam larutan gliserin 20% dalam KOH 1% selama 1-4 hari.
8. Fetus dimasukkan secara berturut-turut dalam larutan gliserin 50% dan 80% dalam KOH 1% masing-masing selama 1 jam, lalu disimpan dalam gliserin 100% untuk kemudian dilakukan pengamatan.

7. Pemotretan Fetus

Sebelum fetus dibuat preparat *Wholemout*, kenampakan luar (abnormalitas eksternal) dipotret terlebih dahulu. Abnormalitas internal fetus diamati, kemudian dilakukan pemotretan dengan menggunakan kamera foto digital merk Sony.

D. Analisis Data

Data kuantitatif (berat fetus, panjang fetus, jumlah fetus mati, resorpsi, jumlah fetus abnormal) yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) dengan menggunakan *software* SPSS versi 14, jika ada perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test*

(DMRT) dengan taraf signifikansi 5%. Data kualitatif (abnormalitas eksternal dan internal serta kematian fetus) dilakukan analisis secara deskriptif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan dengan memberikan kombucha pada tikus putih (*R. norvegicus L.*) selama periode organogenesis, yaitu pada hari ke-5 sampai hari ke-17 masa kebuntingan untuk melihat pengaruhnya terhadap abnormalitas eksterna dan interna fetus tikus. Abnormalitas eksterna pada penelitian ini diamati secara morfometri dengan mengamati penampakan reproduksi induk tikus putih dengan menghitung jumlah fetus hidup, mati atau mengalami resorpsi; menimbang berat badan fetus; mengukur panjang fetus serta mengamati abnormalitas berupa kelainan pembentukan anggota badan. Sedangkan abnormalitas interna yang diamati meliputi struktur tulang dan ossifikasinya.

A. Efek Kombucha terhadap Berat Badan Induk.

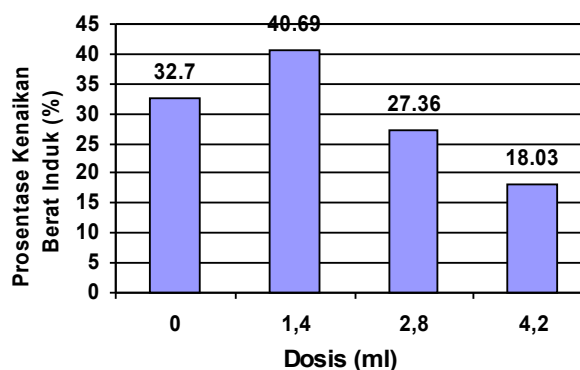
Pengukuran berat badan induk dilakukan pada awal dan akhir perlakuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombucha terhadap penambahan berat badan induk. Hasil dari pengukuran berat yang dilakukan tampak pada Tabel 2.

Tabel 2. Prosentase kenaikan berat badan induk tikus setelah pemberian kombucha

Kehamilan hari ke	Perlakuan / dosis / ml / 200 gr BB			
	Kontrol \pm SD	1,4 \pm SD	2,8 \pm SD	4,2 \pm SD
5	177,7 \pm 24,08 ^{ab}	184,8 \pm 33,62 ^b	188,6 \pm 24,42 ^{ab}	205,2 \pm 12,21 ^a
18	235,8 \pm 24,08 ^{ab}	260,0 \pm 33,62 ^b	240,2 \pm 24,42 ^{ab}	242,2 \pm 12,21 ^a
Prosentase kenaikan berat (%)	32,70	40,69	27,36	18,03

Keterangan : huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak beda nyata diantara perlakuan berdasarkan signifikansi 95%.

Dari Tabel 2 menunjukkan bahwa pada semua induk tikus baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan, namun pemberian kombucha pada periode organogenesis cenderung menyebabkan penurunan prosentase kenaikan berat badan induk awal dan akhir perlakuan seiring dengan meningkatnya dosis. Pada induk perlakuan dosis 1,4 ml/ 200 gr BB memiliki berat yang tertinggi dan seiring meningkatnya dosis mengalami penurunan berat badan. Hal ini disebabkan adanya hubungan yang erat antara jumlah total fetus dan berat badan masing-masing fetus. Menurut Harianto (1996) dan Napitupulu *et al* (2003) asam glukonat ternyata dapat menghambat sintesis kolesterol di dalam hati melalui penghambatan aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA reduktase, enzim ini penting sekali peranannya dalam sintesis kolesterol di dalam hati. Logam berat dan kolesterol yang ada dalam darah, baik yang dibentuk oleh hati maupun dari makanan diikat oleh asam glukoronat, sehingga menjadi bahan yang mudah larut dalam cairan empedu dan dikeluarkan melalui tinja bersama lemak (Dufresne *et al*, 2000). Dari uji Anava dengan taraf kepercayaan 95% yang dilakukan menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan tidak terdapat beda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombucha tidak berpengaruh terhadap berat badan induk tikus. Histogram pengaruh pemberian kombucha terhadap prosentase berat badan induk tikus dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Histogram pengaruh pemberian kombucha terhadap prosentase berat badan induk tikus.

B. Efek Kombucha Terhadap Prosentase Fetus Hidup, Mati, dan Resorbsi pada Hari ke-18 Kebuntingan.

Dari Tabel 3 diketahui bahwa prosentase fetus hidup mencapai 100% seiring penambahan dosis kombucha hingga akhir periode organogenesis. Tidak ditemukan adanya fetus yang mengalami kematian.

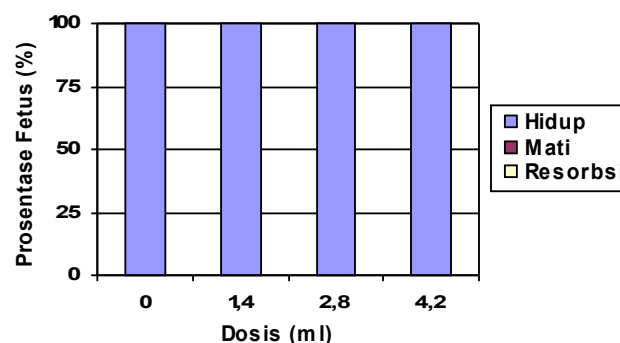
Tabel 3. Prosentase fetus hidup, mati, dan resorbsi dari induk yang diberi kombucha dengan dosis bervariasi.

No.	Perlakuan/dosis (ml/200 g BB)	Jumlah induk (ekor)	Jumlah implant (ekor)	Prosentase fetus (%)		
				Hidup	Mati	Resorbsi
1.	kontrol	6	59	100	0	0
2.	1,4	6	67	100	0	0
3.	2,8	6	66	100	0	0
4.	4,2	6	50	100	0	0

Ditunjukkan pada Tabel 3 bahwa antara kelompok kontrol dan perlakuan kombucha sama-sama memiliki prosentase hidup 100%, prosentase kematian 0% dan resorbsi 0%. Pemberian kombucha tidak mempunyai pengaruh terhadap prosentase fetus hidup, mati dan mengalami resorbsi. Dari data juga terlihat bahwa kombucha tidak memiliki pengaruh terhadap prosentase fetus yang

mengalami resorpsi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Tidak terjadinya resorpsi dikarenakan kombucha memiliki senyawa asam folat yang dapat mendukung kehidupan fetus, sehingga memungkinkan fetus tidak mengalami resorpsi (Ernst *et al*, 2003)

Menurut Guyton (1983) dan Hafez (1970) adanya jumlah implantasi total tiap induk dapat diabaikan. Hal tersebut tidak dipengaruhi oleh pemberian kombucha tetapi dipengaruhi oleh keberhasilan embrio melakukan implantasi yang terlihat melalui jumlah implant, sedangkan jumlah implant ditentukan oleh banyaknya ovum yang diovolusi. Selain itu, Rugh (1968) juga menyebutkan bahwa faktor lain dipengaruhi oleh berapa kali induk telah mengalami kebuntingan, kesehatan, dan ketahanannya.



Gambar 5. Histogram prosentase fetus hidup, mati, resorpsi setelah pemberian kombucha.

Fetus yang mengalami kematian pada percobaan ini tidak didapat, seperti terlihat pada Gambar 5, sehingga dapat disimpulkan bahwa kombucha tidak bersifat embriotoksik dan fetotoksik. Hal ini dikarenakan senyawa asam glukoronat yang dimungkinkan menyebabkan efek embriotoksik dan fetotoksik merupakan senyawa yang dapat terlarut didalam air, senyawa tersebut terlarut

keluar dari dalam tubuh melalui urin. Jika racun dalam tubuh sudah diikat oleh asam glukoronat ia tidak bisa lagi diserap oleh tubuh (Ernst *et al*, 2003).

C. Efek Kombucha terhadap Berat Badan dan Panjang Fetus.

Berat dan panjang fetus perlakuan tampak pada Tabel 4. Secara umum dari Tabel 4 menunjukkan bahwa sejalan dengan peningkatan dosis kombucha yang diberikan pada induk selama periode organogenesis cenderung menyebabkan pertambahan berat badan fetus, sedangkan pada panjang fetus cenderung menyebabkan penurunan.

Tabel 4. Rata-rata berat dan panjang fetus tikus dari induk yang diberi kombucha dengan dosis bervariasi.

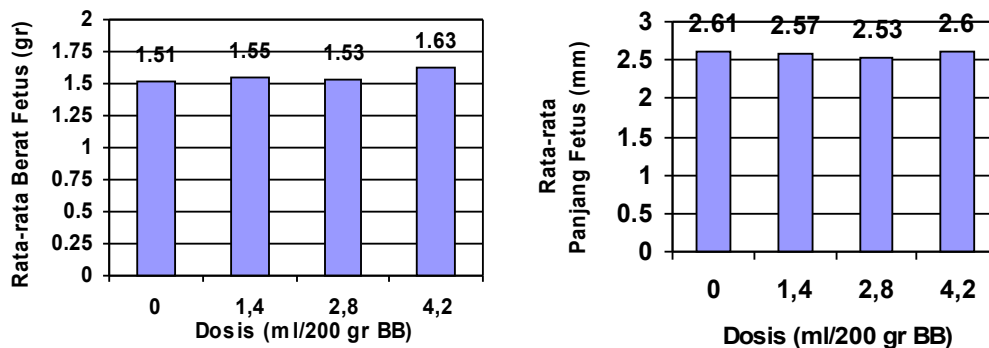
No.	Perlakuan/dosis (ml/200 gr BB)	Jumlah induk (ekor)	Jumlah fetus hidup (ekor)	Rata-rata berat fetus (gr) \pm SD	Rata-rata panjang fetus (mm) \pm SD
1	0	6	59	1,51 \pm 0,26 ^a	2,61 \pm 0,18 ^b
2	1,4	6	67	1,55 \pm 0,22 ^a	2,57 \pm 0,23 ^{ab}
3	2,8	6	66	1,53 \pm 0,17 ^a	2,53 \pm 0,20 ^a
4	4,2	6	50	1,63 \pm 0,14 ^b	2,60 \pm 0,15 ^{ab}

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan signifikansi 95 %.

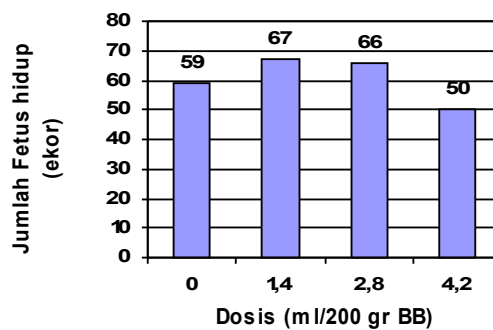
Hasil dengan uji analisis Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan diantara keempat perlakuan. Dari data perlakuan dosis rendah (1,4 ml/200 gr BB), sedang (2,8 ml/200 gr BB), maupun tinggi (4,2 ml/200 gr BB) memiliki rata-rata berat dan panjang fetus yang tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan kombucha memiliki kandungan asam folat yang bermanfaat terhadap perkembangan fetus. Asam folat adalah sejenis vitamin B, yang penting dalam pembentukan sel-sel baru dan perawatan sel. Khususnya

dalam [kehamilan](#), karena pada masa itu terjadi pertumbuhan sel-sel baru dengan sangat pesat (Goldberg, 2002).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran berat badan dan panjang fetus dikarenakan parameter ini cukup sensitif jika dibandingkan dengan malformasi dan kematian (Ryan *et al*, 1991). Penyusutan berat dan panjang badan merupakan bentuk teringan dari ekspresi teratogen sehingga mampu menjadi indikator terjadinya hambatan pertumbuhan akibat gangguan terhadap proses-proses yang mendasari pertumbuhan seperti pembelahan sel, metabolisme, dan sintesis di dalam sel. Histogram rata-rata berat dan panjang fetus setelah pemberian kombucha dapat dilihat pada Gambar 6, sedangkan histogram jumlah fetus hidup setelah pemberian kombucha dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 6. Histogram rata-rata berat fetus dan panjang fetus setelah pemberian perlakuan kombucha.



Gambar 7. Histogram jumlah fetus hidup setelah pemberian perlakuan kombucha.

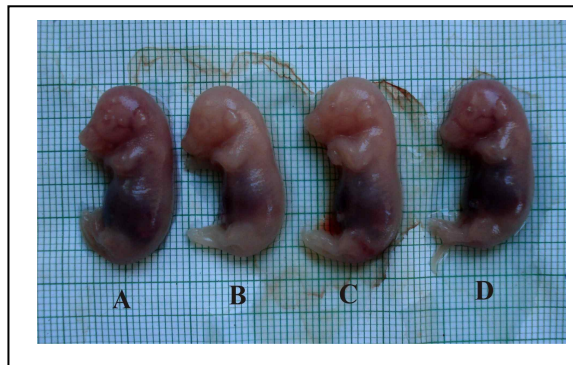
D. Efek Kombucha terhadap Morfologi Fetus Tikus.

Dari Tabel 5 menunjukkan bahwa dengan meningkatnya dosis kombucha yang diberikan tidak menyebabkan adanya fetus yang mengalami kecacatan. Fetus yang terlihat tampak normal dan tidak ada kelainan secara eksterna.

Tabel 5. Prosentase cacat morfologi fetus tikus dari induk yang diberi kombucha dengan dosis bervariasi.

No	Perlakuan/dosis (ml/200 g BB)	Jumlah induk (ekor)	Jumlah fetus (ekor)	Jumlah fetus normal (ekor)	Prosentase fetus yang mengalami kelainan (%)
1	kontrol	6	59	59	0
2	1,4	6	67	67	0
3	2,8	6	66	66	0
4	4,2	6	50	50	0

Tidak terjadinya kecacatan pada fetus yang diberi perlakuan kombucha pada induk seperti yang terlihat pada Gambar 8 dikarenakan senyawa asam glukuronat didalam kombucha yang diperkirakan dapat menimbulkan efek teratogenik merupakan senyawa yang dapat larut didalam air (Chu and Chen, 2006). Menurut Ernst *et al* (2003) asam glukuronat larut dalam air melalui proses glukuronidasi yaitu proses berikatannya asam glukuronat dengan substansi-substansi seperti polutan, bilirubin, androgen, estrogen, dan substansi-substansi lainnya. Substansi-substansi yang telah terikat dengan asam glukuronat melalui proses glukuronidasi pada akhirnya akan terbuang melalui urin. Asam asetat yang dihasilkan kombucha berperan mengikat toksin dan bisa menjadi bentuk ester yang mudah larut dalam air, sehingga mudah dikeluarkan oleh tubuh (Roussin, 2003).



Gambar 8. Perbandingan morfologi fetus tikus setelah pemberian kombucha.
Keterangan: (A). Kontrol, (B). Perlakuan dosis 1,4 ml/200 gr BB, (C).
Perlakuan dosis 2,8 ml/200 gr BB, (D). Perlakuan dosis 4,2 ml/200 gr
BB.

E. Efek Kombucha terhadap Sistem Skeleton Fetus Tikus.

Pengamatan skeleton dilakukan pada hari ke-18 kebuntingan. Menurut Rugh (1968) pada umur kehamilan tersebut rangka fetus telah mencapai perkembangan yang sempurna, sehingga apabila ada kelainan-kelainan dapat segera teramati. Pengamatan dilakukan pada semua sistem skeleton. Rugh (1968) menyatakan bahwa trauma akibat pemberian obat teratogenik pada hari ke-7,5 kebuntingan dapat menyebabkan keterlambatan penulangan. Menurut Anderson dan Conning (1988) dalam Widiyani dan Sagi (2001), pengamatan pertumbuhan dan perkembangan skeleton dapat menggunakan tolok ukur berupa :

- 1). Jumlah komponen skeleton dan tingkat ossifikasinya.
- 2). Ada tidaknya atau sempurna tidaknya ossifikasi, dan
- 3). Ada tidaknya kelainan dalam pembentukan skeleton.

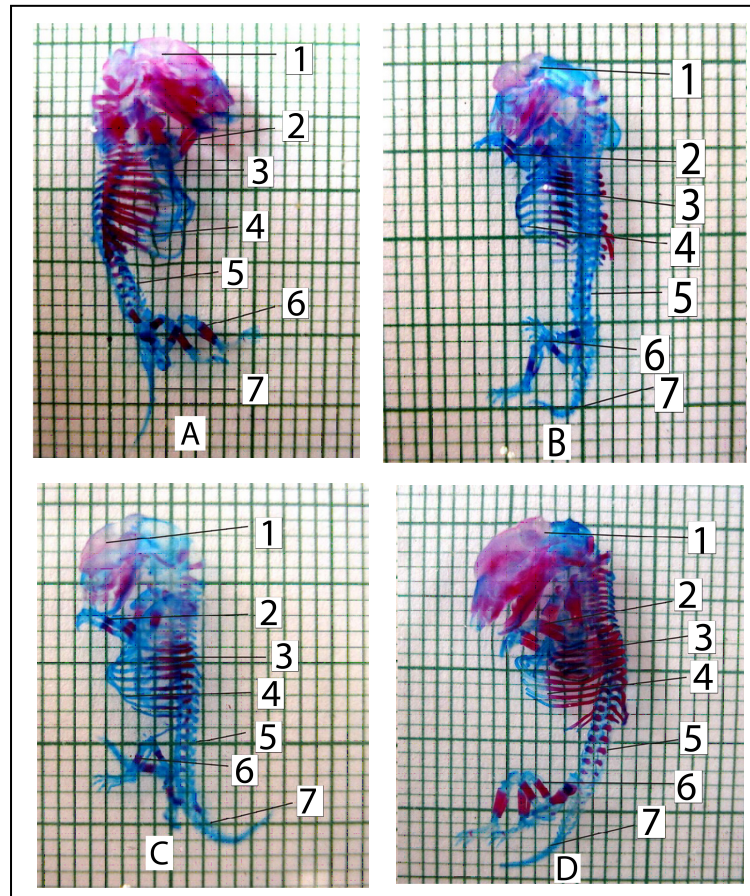
Dari Tabel 6 menunjukkan bahwa tidak terjadi kelainan pada rangka fetus tikus, ditinjau dari tingkat ossifikasinya tidak terjadi keterlambatan ossifikasi pada komponen tulang. Keterlambatan ossifikasi dapat diketahui dengan menghitung jumlah komponen tulang penyusunnya setelah diwarnai *Alizarin Red*

S dan *Alcian Blue*. Komponen tulang akan menghasilkan warna merah sedangkan jika masih bersifat kartilago akan menghasilkan warna biru. Penyerapan warna ini dipengaruhi oleh kalsium tulang. Semakin merah warna yang terserap, berarti proses ossifikasi semakin sempurna (Santoso, 2004).

Tabel 6. Prosentase fetus tikus yang mengalami cacat pada skeleton setelah diberi kombucha dengan dosis bervariasi.

No.	Perlakuan/dosis (ml/200 g BB)	Jumlah induk (ekor)	Jumlah fetus (ekor)	Prosentase fetus cacat (%)
1.	kontrol	6	59	0
2.	1,4	6	67	0
3.	2,8	6	66	0
4.	4,2	6	50	0

Jumlah komponen rangka tulang yang diamati meliputi : jumlah komponen rangka aksial dan rangka appendikular. Pengamatan rangka aksial meliputi *cranium*, *vertebrae*, dan *sternebrae*. Pengamatan rangka appendikular meliputi : *ekstremitas anterior* dan *ekstremitas posterior*. Berdasarkan hasil pengamatan pada jumlah komponen rangka aksial dan appendikular tidak terdapat perbedaan dengan kontrol.



Gambar 9. Perbandingan sistem skeletan fetus kontrol dengan fetus hasil perlakuan dengan diberi kombucha dosis bervariasi selama periode organogenesis, menggunakan pewarnaan *Alizarin Red S* dan *Alcian Blue*.

Keterangan: (A). Fetus kontrol; (B). Fetus perlakuan dosis 1,4 ml/200 gr BB; (C). Fetus perlakuan dosis 2,8 ml/200 gr BB; (D). Fetus perlakuan dosis 4,2 ml/200 gr BB; 1. *Cranium*; 2. *Ekstremitas anterior*; 3. *Sternebrae*; 4. *Costae*; 5. *Vertebrae lumbalis*; 6. *Ekstremitas posterior*; 7. *Vertebrae coccygealis*.

Perbandingan antara hasil ossifikasi fetus kontrol dengan perlakuan terlihat pada Gambar 9. Pada Gambar 9 terlihat hasil ossifikasi pada *cranium* dan *vertebrae lumbalis* telah sempurna, yang tampak terwarnai oleh *Alizarin Red S* sehingga berwarna merah yang berarti tulang tersebut bersifat tulang sejati. Pewarnaan menggunakan *Alcian Blue* menampakkan tulang berwarna biru yang merupakan tulang rawan, seperti yang tampak pada hasil ossifikasi *Vertebrae*

coccygealis. *Cranium* memiliki bentuk yang sempurna dan tidak terjadi hambatan ossifikasi, begitu juga dengan pembentukan *costae*, *ekstremitas anterior* dan *ekstremitas posterior* seperti yang terlihat pada Gambar 9.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap keadaan morfometri dan abnormalitas interna dan eksterna fetus yang induknya diberi perlakuan kombucha selama periode organogenesis secara oral maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Dosis kombucha yang diberikan hingga 4,2 ml/200 gr BB pada induk tikus selama periode organogenesis tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal fetus tikus putih.
2. Dosis kombucha yang diberikan hingga 4,2 ml/200 gr BB pada induk tikus selama periode organogenesis tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan internal fetus tikus putih.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa yang terkandung didalam kombucha secara lebih mendalam khususnya yang kemungkinan berefek negatif bagi manusia.
2. Dapat diadakan penelitian yang lebih lanjut terhadap efek terarogenik kombucha dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi (> LC 50) untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksternal dan internal fetus tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1998. Kombucha Warning. <http://www.fda.gov>. 21 Maret 2007.
- Anonymous. 2002. Mengenal Tumor dan Kanker. <http://www.rich.co.id/> . 7 Desember 2008.
- Anonymous. 2006. Kombucha. <http://www.wikipedia.com>. 21 Maret 2007.
- Bazarewski, S. 1915. *Correspondence for the Association of Nature Researches in Riga*. Riga.
- Chu,C.S and C.Chen, 2006. "Effect of origin and fermentation time on the antioxidant activities of Kombucha." *Food Chemistry*, 98:502-507
- Darwin, K. 1988. *Kecukupan Gizi yang Dianjurkan*. PT Gramedia. Jakarta.
- Datu, A.R. 2005. "Cacat Lahir Disebabkan oleh Faktor Lingkungan (Birth Defects Caused by Environmental Factors)". *Jmed Nus* vol 26 no 3 Juli-September.
- Delatour, P. 1983. *Chemical Induced Teratogenesis in Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Landcasten : MTP Press Limited Boston.
- Dufresne, C. and E.Farnword. 2000. "Tea, Kombucha. And health: a Review". *Food Research International* 33:409-421.
- Ernst, E.; Lindner, B.; Carsten, V. 2003. "Kombucha: A Systematic Review of the Clinical Evidence". *Forsch Komplementarmed Klass Naturheild / Research in Complementary and Clasical Natural Medicine*; 10: 85-87.
- Foye, W.O. 1996. *Prinsip-prinsip Kimia Medisinal*. Edisi ke-2. Yogyakarta. UGM Press.
- Fraser, V.J. 1992. Prinsip-prinsip Terapi Antimicrobial. Dalam : Woodley M., Whelan A. eds Pedoman Pengobatan. Yogyakarta : Yayasan Essentia Medica. 357-79.
- Ganong, W.F. 1990. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 4 (diterjemahkan oleh Petrus Andrianto). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Goldberg, I. 2002. *FUNCTIONAL FOODS, Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. Edited by Israel Goldberg, Chapman and Hall, New York. Hal 3-1

- Goldstein, A.; Aronow, L.; and Kalman, S.M. 1974. *Principle of Drugs Action*. 2nd Edition. A Willey Biomedical Health Pub. New York.
- Gunther, F. 1995. *Kombucha-Healthy Beverage and Natural Remedy from the Far East: Its Correct Preparation and Use*. Ennsthaler Gesellschaaft GmbH & Co KG. German.
- Guyton, A. C. 1976. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Ke-5 (diterjemahkan oleh Adji Dharma dan p. Lukman). EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Guyton, A.C. 1983. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Edisi 3 (diterjemahkan oleh Petrus Andrianto). Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Hafez, E.S.E. 1970. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Philadelphia : Lea & Febinger.
- Harbison, R. D. 1980. *Teratogen in Toxicology the Basic Science of Poison*. Mac Millan Publising Co Inc. New York.
- Harianto. 1996. *Manfaat serat kasar makanan. Sadar pangan dan Gizi*. Vol.5(2):4-5
- Hauser, S. P. 1990. "Dr. Sklenar's Kombucha Mushroom Infusion-A Biological Cancer Therapy". Documentation No. 18 (German). *Schweizerische Rund Schau fur Medizin Praxis*.; 79 (9): 243-246.
- Hobbs, C. 1995. *Kombucha the Essential Guide*. Birkenfeld Press. Germany.
- Howland, J. I. 1975. *Environmental Cell Biology*. W. A. Benjamin Inc. Calitrina.
- Inouye, M. 1976. "Differensial Staining of Cartilage and Bone in Fetal *Musculus* Sceleton by Alcian Blue and Alizarin Red S". *Cong Anomali*. 16 (3): 171-173.
- Jacobs, R.A. 1996. "Anti-infective Chemotherapeutic and Antibiotic Agents". In : Current Medical and Treatment. 35th ed. USA : *Lange Med Publ*. 1317-65.
- Jayabalan, R., S.Marimuthu, K.Swaminathan. 2007. "Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation." *Food Chemistry* 102:392-398.

- Junqueira, L.C., J. Carneiro., R.O. Keley. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi 6 (diterjemahkan oleh Jan Tambayong). Jakarta : EGC.
- Krishnamurthy, S. 1983. "The Intriguing Biological Role of Vitamin E". *J Chem Ed*, 60: 465-467.
- Kumolosasi, E. dkk. 2004. "Efek Teratogenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Pule (*Alstonia scholaris* R.Br) pada Tikus Wistar". *Jurnal Matematika dan Sains*. Vol 9 No 2 : 223-227.
- Lenz, W., and Knapp, K. 1962. "Thalidomid Embriopathy". *Arch Environ Health*. 5 : 100-105.
- Lodewijckx, A. J. 1998. *Life Without Cancer*. Ermelo Co. Netherland.
- Loomis, T. A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi ke-3 (diterjemahkan oleh Donatus, I. A.). IKIP Semarang Press. Semarang.
- Mayser, P.; Frommes, W.; and Leitzmann, C. 1995. "The Yeast Spectrum of the Tea Fungus Kombucha". *Mycoses*.; 38 (7-8): 289-295.
- Monson, N. 1995. "Kombucha Tea: A Controversy Brews Among Patients and Physicians Alternative and Complementary Therapies". *Med J*. Sept / Oct: 281-283.
- Naland, H. 2003. *Kombucha, Minuman Nikmat yang Menyehatkan*. Herba. 7 Desember-2 Januari.
- Naland, H. 2004. *Kombucha Teh Ajaib: Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. PT Agromedia Pustaka. Tangerang.
- Napitupulu, R.N.R., T. Yulineri, R. Hardiningsih, dan N. Nurhidayat. 2003. "Daya Ikat Kolesterol dan Produksi Asam Organik Isolat *Lactobacillus* Terseleksi untuk Penurun Kolesterol". *Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Bandung, 29-30 Agustus 2003. Hal. 137
- Pacifici, G.M. 1995. "Placental Transfer of Drugs Administered to The Mother". *Clin Pharmacokinet*. 28 : 235-69.
- Paimin, F. R. 2001. *Sembuh Komplikasi Berkat Jamur Dipo*. Trubus. Jakarta.
- Pauline, V.; Mollenda, L.; Arauner, E., and Irion,H. 2001. "Studies on Toxicity, Anti-Stress and Hepato-Protective Properties of Kombucha Tea". *Biomed Environ Sci*. Sept; 14 (3): 207-213.

- Perron, A. D. 1995. "Kombucha Mushroom Hepatotoxicity". *Ann Emerg Med.*: 26; 660-661.
- Phan, P.; Konovallow, I. N.; and Barbancik, G. F. 1998. "Lead Poisoning from Drinking Kombucha Tea Brewed in a Ceramic Pot". *Med Journal Aust.* Dec 7-21; 169 (11-12): 644-646.
- Ramelan. W.; dan Syahrin, H. M. 1994. "Kelainan pada Proses Perkembangan Embrio (Teratologi), Reproduksi dan Embriologi dari Satu Sel Menjadi Organisme". *Balai Penerbit FKUI*. Jakarta.
- Ritter, E.J. 1977. *Altered Biosynthesis in: Hard Book of Teratology*. Vol 2 (edited by J. G. Wilson and F. C. Fraser). Plenum Press. New York.
- Roussin, M. 2003. *Analysis of Kombucha Ferments*. <http://www.kombucha-research.com/>. 28 Maret 2007.
- Rubin, P.C. 1992. *Drugs in Special Patient Group : Pregnancy and Nursing*. In : *Clinical Pharmacology Basic Principles in Therapeutics*, 3rd ed 805-25.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse : Its Reproduction and Development*. New York : Burger Publishing, Co.
- Ryan, L.M., Catalano, P.J., Kimmel, C.A., and Kimmel, G.L. 1991. *Relationship Between Fetal Weight and Malformation in Development Toxicity Studies*. *Teratology* 44 : 215-223.
- Santoso, H.B. 2004. "Kelainan Struktur Anatomi Skeleton Mencit Akibat Kafein". *BIOSCIENTIAE*. 1 : 23-30.
- Sauriasari, R. 2006. Efek Obat Terhadap Janin. <http://www.farmasinet.com>. 28-09-2006.
- Siswosudarmo, R. 1988. *Efek Samping Obat Terhadap Perkembangan Janin*. Yayasan Melati Nusantara. Yogyakarta.
- Srinivasan, R.; Smolinska, S.; and Greenbaum, D. 1997. "Propable Gastrointestinal Toxicity of Kombucha Tea: Is This Beverage Healthy or Harmfull?". *Journal of General Internal Medicine.*; 12: 643-644.
- Suriawiria, U. 2002. *Teh Minuman Penuh Manfaat*. Kompas. 2 April.
- Tietze, H. W. 1995. *Kombucha the Miracle Fungus*. 6th edition. Bermagui, NSW: Harald Tietze Publications.

- Tjay, T.H, dan Rahardja, K. 2002. *Obat-obatan Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Tuchmann, D. 1975. *Drug Effect on The Fetus*. Adis Press. New York-London.
- Webb, J. 1995. *Kombucha Tea-What's Brewing?*. *Drug Information Perspective*.; 15 (2): 7-8.
- Whitehead, G. 2006. Kombucha. <http://www.harmonikireland.com>. 15 Maret 2007.
- Widiyani, T., Sagi, M. 2001. "Pengaruh Aflatoksin B1 Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio dan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*)". *Tecnosains XIV* (3): 409-427.
- Wigod, R. 1995. "Kombucha Craze Growing Like Fungus". *The Vancouver Sun*. Jan 30: B1.
- Young, V. S. L. 2001. "Teratogenicity and Drugs in Breast Milk". In: Koda-Kimble, Anne, M.; and Bing, M. 2001. *Applied Therapeutics: the Clinical Use of Drugs*. Lippincott Williams and Wilkins.

LAMPIRAN

LAMPIRAN HASIL ANALISIS VARIAN

Lampiran 1. Berat Badan dan Panjang Fetus.

Case Processing Summary

	Treatment	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Berat Fetus	akuades 2 ml	57	100,0%	0	,0%	57	100,0%
	kombucha 1,4 ml	67	100,0%	0	,0%	67	100,0%
	kombucha 2,8	66	100,0%	0	,0%	66	100,0%
	kombucha 4,2 ml	50	100,0%	0	,0%	50	100,0%
Panjang Fetus	akuades 2 ml	57	100,0%	0	,0%	57	100,0%
	kombucha 1,4 ml	67	100,0%	0	,0%	67	100,0%
	kombucha 2,8	66	100,0%	0	,0%	66	100,0%
	kombucha 4,2 ml	50	100,0%	0	,0%	50	100,0%

Descriptives

	Treatment		Statistic	Std. Error
Berat Fetus	akuades 2 ml	Mean	1,50675	,033786
		95% Confidence Interval for Mean	1,43907	
		Lower Bound		
		Upper Bound	1,57444	
		5% Trimmed Mean	1,51673	
		Median	1,58700	
		Variance	,065	
		Std. Deviation	,255077	
		Minimum	,963	
		Maximum	1,860	
		Range	,897	
		Interquartile Range	,381	
		Skewness	-,637	,316
		Kurtosis	-,798	,623
	kombucha 1,4 ml	Mean	1,54834	,026784

		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,49487	
			Upper Bound	1,60182	
kombucha 2,8		5% Trimmed Mean		1,55268	
		Median		1,57400	
		Variance		,048	
		Std. Deviation		,219233	
		Minimum		1,056	
		Maximum		1,978	
		Range		,922	
		Interquartile Range		,265	
		Skewness		-,425	,293
		Kurtosis		-,255	,578
		Mean		1,52712	,020849
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,48548	
			Upper Bound	1,56876	
		5% Trimmed Mean		1,53417	
		Median		1,56650	
kombucha 4,2 ml		Variance		,029	
		Std. Deviation		,169377	
		Minimum		1,102	
		Maximum		1,909	
		Range		,807	
		Interquartile Range		,204	
		Skewness		-,731	,295
		Kurtosis		,305	,582
		Mean		1,63036	,019208
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,59176	

Panjang Fetus	akuades 2 ml	Upper Bound		1,66896	
		5% Trimmed Mean		1,62664	
		Median		1,61700	
		Variance		,018	
		Std. Deviation		,135820	
		Minimum		1,329	
		Maximum		1,993	
		Range		,664	
		Interquartile Range		,170	
		Skewness		,441	,337
		Kurtosis		,084	,662
		Mean		2,609	,0235
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,562	
			Upper Bound	2,656	
		5% Trimmed Mean		2,606	
	kombucha 1,4 ml	Median		2,600	
		Variance		,032	
		Std. Deviation		,1776	
		Minimum		2,3	
		Maximum		3,0	
		Range		,7	
		Interquartile Range		,2	
		Skewness		,140	,316
		Kurtosis		-,316	,623
		Mean		2,569	,0277
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,513	
			Upper Bound	2,624	

	kombucha 2,8	5% Trimmed Mean	2,576	
		Median	2,600	
		Variance	,051	
		Std. Deviation	,2264	
		Minimum	2,0	
		Maximum	3,1	
		Range	1,1	
		Interquartile Range	,2	
		Skewness	-,566	,293
		Kurtosis	,480	,578
		Mean	2,524	,0248
		95% Confidence Interval for Mean	2,475	
		Lower Bound		
		Upper Bound	2,574	
		5% Trimmed Mean	2,532	
	kombucha 4,2 ml	Median	2,600	
		Variance	,041	
		Std. Deviation	,2016	
		Minimum	2,1	
		Maximum	2,8	
		Range	,7	
		Interquartile Range	,4	
		Skewness	-,401	,295
		Kurtosis	-,982	,582
		Mean	2,594	,0213
		95% Confidence Interval for Mean	2,551	
		Lower Bound		
		Upper Bound	2,637	
		5% Trimmed Mean	2,593	
		Median	2,600	

Variance	,023	
Std. Deviation	,1504	
Minimum	2,3	
Maximum	2,9	
Range	,6	
Interquartile Range	,2	
Skewness	-,007	,337
Kurtosis	-,377	,662

Tests of Normality

	Treatment	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat Fetus	akuades 2 ml	,151	57	,002	,914	57	,001
	kombucha 1,4 ml	,088	67	,200(*)	,969	67	,090
	kombucha 2,8	,119	66	,022	,944	66	,005
	kombucha 4,2 ml	,088	50	,200(*)	,975	50	,364
Panjang Fetus	akuades 2 ml	,165	57	,001	,951	57	,021
	kombucha 1,4 ml	,157	67	,000	,948	67	,007
	kombucha 2,8	,187	66	,000	,911	66	,000
	kombucha 4,2 ml	,180	50	,000	,937	50	,010

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Berat Fetus	9,051	3	236	,000
Panjang Fetus	3,437	3	236	,018

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Treatment	N	Mean Rank
Berat Fetus	akuades 2 ml	57	115,21
	kombucha 1,4 ml	67	119,85
	kombucha 2,8	66	108,71
	kombucha 4,2 ml	50	142,96
	Total	240	

Panjang Fetus	akuades 2 ml	57	129,89
	kombucha 1,4 ml	67	122,06
	kombucha 2,8	66	107,02
	kombucha 4,2 ml	50	125,50
	Total	240	

Test Statistics(a,b)

	Berat Fetus	Panjang Fetus
Chi-Square	7,472	3,934
df	3	3
Asymp. Sig.	,058	,269

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Treatment

Post Hoc Tests

Treatment

Homogeneous Subsets

Berat Fetus

Duncan

Treatment	N	Subset	
		1	2
akuades 2 ml	57	1,50675	
kombucha 2,8	66	1,52712	
kombucha 1,4 ml	67	1,54834	
kombucha 4,2 ml	50		1,63036
Sig.		,294	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,041.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 59,153.

b Alpha = ,05.

Panjang Fetus

Duncan

Treatment	N	Subset	
		1	2
kombucha 2,8	66	2,524	
kombucha 1,4 ml	67	2,569	2,569
kombucha 4,2 ml	50	2,594	2,594
akuades 2 ml	57		2,609
Sig.		,065	,293

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,038.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 59,153.

b Alpha = ,05.

Lampiran 2. Berat Badan Induk.

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Pertambahan Berat Induk	akuades 2 ml	6	10,5%	51	89,5%	57	100,0%
	kombucha 1,4 ml	6	9,0%	61	91,0%	67	100,0%
	kombucha 2,8	6	9,1%	60	90,9%	66	100,0%
	kombucha 4,2 ml	6	12,0%	44	88,0%	50	100,0%

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pertambahan Berat Induk	akuades 2 ml	,258	6	,200(*)	,835	6	,118
	kombucha 1,4 ml	,276	6	,170	,923	6	,525
	kombucha 2,8	,309	6	,076	,855	6	,172
	kombucha 4,2 ml	,215	6	,200(*)	,967	6	,875

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Descriptives

Pertambahan Berat Induk

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
akuades 2 ml	6	58,1667	24,07834	9,82994	32,8980	83,4353	16,00	78,00
kombucha 1,4 ml	6	75,1667	33,61795	13,72447	39,8868	110,4465	33,00	134,00
kombucha 2,8	6	51,5000	24,41925	9,96912	25,8736	77,1264	6,00	79,00
kombucha 4,2 ml	6	36,3333	12,20929	4,98442	23,5205	49,1462	20,00	56,00
Total	24	55,2917	27,13810	5,53954	43,8323	66,7511	6,00	134,00

Test of Homogeneity of Variances

Pertambahan Berat Induk

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,660	3	20	,586

ANOVA

Pertambahan Berat Induk

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4662,458	3	1554,153	2,532	,086
Within Groups	12276,500	20	613,825		
Total	16938,958	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Pertambahan Berat Induk

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kombucha 4,2 ml	6	36,3333	
kombucha 2,8	6	51,5000	51,5000
akuades 2 ml	6	58,1667	58,1667
kombucha 1,4 ml	6		75,1667
Sig.		,163	,132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

RIWAYAT HIDUP PENULIS

Nama Lengkap : Cahya Setiawan
Tempat dan tanggal lahir : Surakarta, 21 April 1984
Jenis Kelamin : Laki-laki
Agama : Katholik
Status Pernikahan : Belum menikah
Alamat Asal : Jl. Lampo Batang Dalam I/5 Mojosongo
Surakarta 57127. No. Telepon: (0271) 856094.
Alamat di Solo : Jl. Lampo Batang Dalam I/5 Mojosongo
Surakarta 57127. No. Telepon: (0271) 856094.
No. HP : 08562849378
Alamat E-mail : cahya_mania@yahoo.co.id

Pendidikan Formal

Tingkat Pendidikan	Nama	Tahun mulai	Tahun selesai
SD	SD Negeri No. 16 Surakarta	1990	1996
SLTP	SLTP Negeri 1 Surakarta	1996	1999
SLTA	SMA Negeri 3 Surakarta	1999	2002

Pendidikan Non Formal

Nama Pelatihan/Kursus	Instansi Penyelenggara	Tahun
1. Kursus Bahasa Inggris	ELTI Surakarta	2006
2. Workshop dan Pelatihan Budidaya Jamur	Biologi FMIPA UNS	2005
3. Workshop dan Pelatihan Program Pembuatan Proposal Penelitian dan Tugas Akhir	Biologi FMIPA UNS	2007

Pengalaman Organisasi

Organisasi	Jabatan	Tahun
1. Himabio	Staff Bidang	2002-2003
2. Himabio	Staff Bidang	2003-2004

Surakarta, April 2009

Cahya Setiawan